

Experimentelle Untersuchungen
zur Hyaluronidasehemmung durch
ein aromatisches Oxyaminoketon

von

THOMAS BATISWEILER

München 1962

Aus der Medizinischen Poliklinik der
Universität München
Direktor: Professor Dr.W. Seitz

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN
ZUR
HYALURONIDASEHEMMUNG DURCH
EIN AROMATISCHES
OXYAMINOKETON

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfasst und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Thomas Batisweiler
aus
München
1962



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Walter Seitz

Mitberichterstatter: Dr. Hartwig Mathies

Dekan: Prof. Dr. Walter Seitz

Tag der mündlichen Prüfung: 31. Juli 1962

Meinem Vater

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Problematik	4
Eigene Versuche	
Methodik	5
Versuchsreihen	7
Tabellen	9
Statistische Auswertung	16
Diskussion	41
Zusammenfassung	42
Literaturverzeichnis	44



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555208_0027

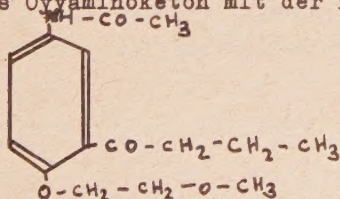
Problematik

Im Rahmen der Aufklärung hyaluronidasehemmender Substanzen haben M a t h i e s und Mitarbeiter ¹⁻¹³⁾ eine Reihe wertvoller Beiträge geliefert. So wurde z.B. die Hyaluronidasehemmung des Chloroquins ¹⁾, der Acetylsalicylsäure ²⁾, des Natriumsalicylates ³⁾, des Chloräthylbenzmethoxazons ⁴⁾, des Phenylbutazons ⁵⁾, des Prednisolons ⁶⁾ und des Oestroneulfates ⁷⁾ im in vivo-Versuch an männlichen weissen Ratten untersucht. Dieselben Untersuchungen wurden weiterhin mit verschiedenen Moorbädern ⁸⁻¹⁰⁾ und Moorlaugen ¹¹⁾ unterschiedlicher Moorkomplexe, mit Huminsäurebädern ¹²⁾, mit Schwefelbädern ¹³⁾ und Wasserbädern ¹³⁾ durchgeführt. Die hier gefundenen Ergebnisse sind in den Tabellen 1 - 4 aufgeführt.

Hierbei wurde die gleiche Methode des Hyaluronidase - Spreadings angewandt, wie sie auch der vorliegenden Arbeit zugrunde gelegt wurde und weiter unten eingehend beschrieben wird.

Diese umfangreichen Arbeiten geben die Möglichkeit eines Vergleiches hyaluronidasehemmender Substanzen bezüglich des Ausmasses ihrer Wirkung.

Im Rahmen dieser Arbeit soll nun der hemmende Einfluss einer weiteren neuentwickelten Substanz auf das Hyaluronidase - Spreading untersucht werden. Es handelt sich um das 2-(-Methoxyäthoxy)-5-acetamino-butyrophenon, also ein aromatisches Oxyaminoketon mit der Konstitutionsformel



Für diesen Stoff wurde die Versuchsbezeichnung Ap 769 gewählt.

Die Substanz fiel bei der pharmakologischen Prüfung ¹⁴⁾ wegen mehrerer ausgeprägter Merkmale aus einer Reihe verschieden substituierter Aminophenole auf. So konnte im Tierversuch ein antipyretischer, ein antiphlogistischer und analgetischer Effekt nachgewiesen werden. Eine akute Toxizität zeigte sich nur nach Gabe von extrem hohen Dosen, während eine chronische Toxizität selbst nach monatelanger Gabe normaler Dosen nicht festgestellt werden konnte.

Eigene Untersuchungen

Methodik

Für die Versuche wurden weiße, männliche Ratten verwandt, die ein Gewicht von 180 - 220 g hatten. An ihnen wurde der hemmende Einfluss des Ap 769 auf die Hyaluronidaseaktivität mit Hilfe des sog. Spreading-Testes festgestellt. Dieser Test beruht auf der Flächenausbreitung intracutan gesetzter Farbstoff- bzw. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln vor und nach Injektion der hemmenden Substanz, in unserem Fall also vor und nach intraperitonealer Applikation des Ap 769 und nach Ablauf einer festgesetzten Zeit.

Nach M a d i n a v e i t t a ¹⁵⁾ besteht der Mechanismus der intracutanen Ausbreitung einer Farbstoffquaddel aus zwei Phasen, wobei das Spreading nur in der ersten Phase ein Hyaluronidaseeffekt ist. In der zweiten Phase dürften Resorptionsmechanismen im Vordergrund stehen. Da die erste Phase innerhalb von 10 min. abläuft, erfolgt die Ablesung der Intracutanquaddel nach dieser Zeit.

Durch Quaddelsetzung nach weiteren festgesetzten Zeiten kann der Verlauf der Hemmung beurteilt werden.

Um die Quaddel in eine intakte Bauchhaut setzen zu können, wurde diese schonend mit dem Enthaarungsmittel "Pilca" enthaart. Beim Setzen der Quaddel wurde eine 20-er Kanüle etwa 1 - 1 1/2 cm weit intracutan vorgeschoben, womit der Rücklauf der gespritzten Flüssigkeit verhindert wurde. Im vorliegenden Versuch bestand die Farbstoff-Quaddel aus 0,1 ccm einer 0,6 ‰-igen Evansbluelösung. Die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel enthielt 0,1 ccm eines Evansblue-Hyaluronidase-Gemisches. Hierfür wurde eine Trockenampulle Hyaluronidase (Kinetin) mit 150 I.E. in 2 ccm der obengenannten 0,6 ‰-igen Evansbluelösung gelöst. So wurden also mit 0,1 ccm jeweils 7,5 I.E. injiziert. Die Konturen der sich ausbreitenden Quaddeln wurden nach 10 min. auf einen durchsichtigen Zelluloidstreifen übertragen. Mit Hilfe der planimetrischen Auswertung wurde der Flächeninhalt der Farbstoff-Flecken bestimmt und in mm² angegeben.

Die intraperitoneale Applikation der hemmenden Substanz erfolgte derart, dass bei der auf dem Rücken liegenden Ratte mit der linken Hand die Bauchhaut mitsamt der Rectusmuskulatur hochgehoben wurde, während mit der rechten Hand in den so entstandenen Hautmuskelwulst die Kanüle ((parallel zur Längsachse des Tieres) so weit eingestochen wurde, bis sie sich frei beweglich in der Bauchhöhle befand. Es wurden jeweils 20 mg Ap 769 pro 100 g Tier injiziert.

Die Herstellungsweise der Substanzlösung erfolgte nach folgendem Rezept: 2 g der Substanz Ap 769 wurden nach feinsten Verreibung der Kristalle in 100 ml eines 1 %igen Tyloseschleims suspendiert, der hierfür verwandte Tylose-

schleim bestand aus 1 g Tylose, KN 2000, welche in 100 ml aqua dest. gelöst war.

Schliesslich muss erwähnt werden, dass bei sämtlichen Versuchstieren eine Evipannarkose durchgeführt wurde.

Nach Bestimmung des jeweiligen Körpergewichtes erhielt jede Ratte auf 100 g Eigengewicht 0,2 ccm einer frisch hergestellten Evipan-Natrium-Lösung. Die Lösung bestand aus 5 mg Evipan-Natrium-Substanz in 5 ccm aqua dest. und wurde subcutan am Rücken der Tiere injiziert.

Ein etwaiger Einfluss von Barbituraten auf die Aktivität der Hyaluronidase besteht nach W i l h e l m i ¹⁶⁾ nicht.

Versuchsreihen

Versuchsreihe I

Bei dieser Versuchsreihe wurden insgesamt 30 Ratten mit einem Gewicht zwischen 170 bis 220 g verwandt. Es sollte zunächst aus Vergleichsgründen das Lösungsmittel ohne Wirksubstanz untersucht werden.

Nach Setzen einer Farbstoff- und einer Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel und dem Ablesen nach 10 min. wurde 0,5 ccm/100 g Tier reinen Tyloeschleims intraperitoneal injiziert.

Eine fragliche Hemmung auf die Hyaluronidaseaktivität wurde durch das Setzen von Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln in den Zeitabständen 15, 30 min. (Versuchsreihe I a), 45, 60 min. (Versuchsreihe I b), 90, 120 min. (Versuchsreihe I c), p.i. untersucht.

Hierbei konnte eine Hemmung nicht festgestellt werden. Die Ergebnisse finden sich in Tabelle 5 - 7 und 17 - 19.

Bei der Versuchsreihe I a wurden die Tiere 6 mit 10 nicht in der üblichen Weise von cranial nach caudal, sondern in umgekehrter Reihenfolge von caudal nach cranial gequaddelt. Diese Unterscheidung findet in der Statistik durch eine weitere Aufteilung in Gruppe 1 (von cranial nach caudal) und Gruppe 2 (von caudal nach cranial) ihren Ausdruck.

Versuchsreihe II

In dieser Versuchsreihe wurden insgesamt 30 Tiere mit einem Gewicht zwischen 170 und 210 g verwandt. Hierbei wurde zunächst eine Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel gesetzt und nach 10 min. abgelesen. Dann erfolgte die intraperitoneale Applikation der hemmenden Substanz Ap 769 in der schon oben angegebenen Menge, also 20 mg pro 100 g Tier.

Die hemmende Wirkung der Substanz wurde durch das Setzen weiterer Quaddeln in Zeitabständen von 15,30 min. (Versuchsreihe II a), 45,60 min. (Versuchsreihe II b), sowie 90,120 min. (Versuchsreihe II c) p.i. untersucht.

Insgesamt zeigte diese Versuchsreihe eine starke Hemmung, die bei 30 min. ihren Maximalpunkt erreichte.

Die Ergebnisse sind aus Tabelle 8 - 10 und 20 - 22 ersichtlich.

In den Versuchsreihen II a, II b und II c wurden jeweils die Tiere 6 mit 10 von caudal nach cranial gequaddelt. Entsprechend erfolgte auch hier im statistischen Teil eine Aufteilung in Gruppe 1 und 2.

N	Zeit- punkt Min.	Substanz Dosis	Farbstoff-Quaddel			p	Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			
			vor mm ²	nach mm ²	MD mm ²		vor nach mm ²	MD mm ²	p	
5	30'	Chloroquin	109	97	-12	1%	200	159	-41	1%
5	50'	10 mg/100g s.c.	109	96	-13	1%	200	147	-53	1%
5	70'		105	100	-5	-	209	180	-29	1%
5	90'		105	94	-11	5%	209	155	-54	1%
7	40'	Acetylsalicylsäure 50 mg/100 g s.c.	143	-	-	-	249	208	-41	2%
2	20'	Natriumsalicylat	130	135	+5	-	251	249	-2	-
4	30'	50 mg/100 g s.c.	156	147	-9	-	283	238	-45	-
4	40'		130	135	+5	-	251	218	-33	1%
4	50'		156	147	-9	-	283	236	-47	-
3	60'		149	143	-6	-	271	240	-31	-
3	80'		149	148	-1	-	271	250	-21	-
4	15'	Chloräthylbenz-	84	79	-5	-	198	182	-16	-
4	30'	methoxazon	84	70	-14	-	198	160	-38	1%
4	45'	20 mg/100 g i.p.	71	73	+2	-	217	166	-51	1%
4	60'		71	-	-	-	217	179	-38	1%
4	90'		71	-	-	-	217	180	-37	5%

N	Zeit- punkt Min.	Substanz Dosis	Farbstoff - Quaddel				Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			
			vor mm ²	nach mm ²	MD mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	MD mm ²	p
10	40'	Phenylbutazon 20 mg/100 g s.c.	107	109	+ 2	-	183	169	-14	-
10	60'		109	104	- 5	-	177	133	-44	1%
5	90'		92	104	+12	-	192	160	-32	5%
3	0'	Prednisolon 2,5 mg/100 g i.v.	119	120	+ 1	-	205	208	+ 3	-
3	15'		119	-	-	-	205	200	- 5	-
3	45'		110	-	-	-	205	235	+30	-
3	60'		119	-	-	-	205	218	+13	-
3	80'		112	115	+ 3	-	208	164	-44	1%
3	120'		112	-	-	-	208	170	-38	2%
3	160'		112	-	-	-	208	178	-30	5%
3	200'		112	-	-	-	208	214	+ 6	-
7	10'	Oestroneulfat 50 mg/100 g s.c.	178	172	- 6	-	280	229	-51	1%
7	20'		182	180	- 2	-	275	233	-42	1%
7	30'		178	178	+ 0	-	280	227	-53	1%
7	40'		182	172	-10	-	275	217	-58	1%
7	50'		178	177	- 1	-	280	215	-65	1%
7	60'		182	176	- 6	-	275	267	- 8	-
5	20'	Reichenhaller Moor 3 : 4 30 min. bei 37°C	129	114	-15	-	192	152	-40	0,5%
4	30'		126	121	- 5	-	182	154	-28	5%
5	40'		129	121	- 8	-	175	162	-13	-
4	60'		124	122	- 2	-	185	173	-12	-
4	90'		122	114	- 8	-	185	164	-21	-
5	120'		138	129	- 9	-	202	191	-11	-
5	150'		138	130	- 8	-	202	167	-35	0,5%

T a b e l l e 2

N	Zeit- punkt Min.	Substanz Dosis	Farbstoff - Quaddel			Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel				
			vor mm ²	nach mm ²	MD mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	MD mm ²	p
4	20'	Reichenhaller Moor 1 : 500 30 min. bei 37° C	127	114	-13	-	183	172	-11	-
4	30'		127	128	+ 1	-	183	188	+ 5	-
4	40'		118	114	- 4	-	195	178	-17	-
7	60'		125	123	- 2	-	188	171	-17	-
6	90'		135	128	- 7	-	205	179	-26	2,5%
4	120'		133	129	- 4	-	216	189	-27	5%
5	150'		137	125	-12	-	226	193	-33	2,5%
4	20'	Neydhartinger Moor 1 : 500 30 min. bei 37° C	127	109	-18	5 %	177	160	-17	2,5%
5	30'		128	120	- 8	-	189	167	-22	2,5%
4	40'		128	123	- 5	-	179	161	-18	5%
4	60'		129	126	- 3	-	175	166	- 9	-
4	90'		127	114	-13	-	179	167	-12	-
6	120'		129	115	-14	-	203	178	-25	5%
5	150'		130	124	- 6	-	205	203	- 2	-
6	20'	Wurzacher Moor 1 : 2 30 min. bei 37° C	126	115	-11	1%	217	136	-81	1%
6	30'		126	113	-13	1%	217	140	-77	1%
5	60'		123	114	- 9	5%	224	179	-45	1%
4	30'	Pela-Moor-Lauge 1 : 500 30 min. bei 37° C	94	86	+ 8	-	200	146	-54	1%
4	40'		121	98	-23	-	174	120	-54	1%
4	90'		110	106	- 4	-	171	153	-18	1%
4	120'		102	106	+ 4	-	192	173	-19	5%
4	150'		124	101	-23	5%	229	171	-58	1%

N	Zeit- punkt Min.	Substanz Dosis	Farbstoff - Quaddel				Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel			
			vor mm ²	nach mm ²	MD mm ²	p	vor mm ²	nach mm ²	MD mm ²	p
5	10'	Huminsäuren 1 : 0,3 g/10 l H ₂ O 30 min. bei 37° C	123	125	+ 2	-	201	181	-20	1%
6	20'		138	138	+ 0	-	224	189	-35	1%
5	30'		123	126	+ 3	-	201	170	-31	1%
6	40'		138	147	+ 9	-	224	176	-48	1%
6	60'		130	131	+ 1	-	221	214	- 7	1%
6	90'		130	127	- 3	-	221	174	-47	1%
5	10'	Schwefel-Bäder 1 : 3300 30 min. bei 37° C	120	117	- 3	-	196	164	-32	1%
5	20'		133	129	- 4	-	210	168	-42	1%
5	30'		120	120	+ 0	-	196	154	-42	1%
5	40'		133	123	-10	-	210	151	-59	1%
5	60'		130	117	-13	-	237	181	-56	1%
5	90'		130	125	- 5	-	237	158	-79	1%
5	15'	1 com aqua bideest./ 100 g s.c.	128	-	-	-	203	201	- 2	-
4	50'		178	179	+ 1	-	280	280	+ 0	-
4	60'		125	121	- 4	-	208	207	- 1	-
4	20'	Wasserbäder 30 min. bei 37° C	120	128	+ 8	-	248	243	- 5	-
4	30'		120	133	+13	-	248	247	- 1	-
4	40'		143	141	- 2	-	255	257	+ 4	-
4	60'		143	137	- 6	-	253	251	- 2	-
4	90'		137	137	+ 0	-	253	262	+ 9	-

T a b e l l e 4

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel vor	Farbstoff- Quaddel 15 min.	Farbstoff- Quaddel 30 min.	Farbstoff- Hyaluroni- dase - Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluroni- dase - Quaddel 15 min.	Farbstoff- Hyaluroni- dase - Quaddel 30 min.
nach 0,5 ccm/100 g Tier Tyloseschleim							
1	195 g	178	154	154	277	250	259
2	195 g	156	161	154	270	274	248
3	185 g	151	149	149	242	229	235
4	185 g	129	150	153	202	242	219
5	210 g	153	156	149	231	249	232
6	195 g	172	155	159	238	247	251
7	175 g	165	164	159	267	259	226
8	210 g	155	159	164	267	244	239
9	215 g	155	159	155	262	250	259
10	185 g	175	178	169	273	265	255

T a b e l l e 5 - Versuchsreihe 1 a

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel vor	Farbstoff- Quaddel 45 min.	Farbstoff- Quaddel 60 min.	Farbstoff- Hyaluroni- dase - Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluroni- dase - Quaddel 45 min.	Farbstoff- Hyaluroni- dase - Quaddel 60 min.
nach 0,5 ccm/100 g Tier Tyloseschleim							
1	220 g	169	170	168	280	289	281
2	205 g	146	148	142	245	239	263
3	190 g	163	140	152	251	250	234
4	185 g	141	150	158	239	233	245
5	195 g	135	150	138	290	259	269
6	200 g	141	164	151	258	262	271
7	170 g	143	144	152	264	274	273
8	185 g	151	152	149	282	290	282
9	165 g	135	152	150	237	270	263
10	175 g	169	159	153	264	262	270

T a b e l l e 6 - Versuchsreihe 1 b

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel vor	Farbstoff- Quaddel 90 min.	Farbstoff- Quaddel 120 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 90 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 120 min.
------	---------	------------------------------	----------------------------------	-----------------------------------	---	---	--

nach 0,5 ccm/100 g Tier Tyloseschleim

1	220 g	144	139	143	264	274	259
2	205 g	147	150	132	273	269	273
3	175 g	133	140	139	268	260	252
4	210 g	152	169	175	255	243	251
5	180 g	142	172	158	283	255	287
6	185 g	137	143	151	246	255	246
7	170 g	151	149	155	251	264	243
8	180 g	141	162	144	264	250	239
9	175 g	135	137	144	219	256	242
10	175 g	146	158	161	229	220	250

T a b e l l e 7 - Versuchsreihe 1 c

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel vor	Farbstoff- Quaddel 15 min.	Farbstoff- Quaddel 30 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 15 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 30 min.
------	---------	------------------------------	----------------------------------	----------------------------------	---	---	---

nach 20 mg/100 g Tier Ap 769

1	190 g	157	149	154	279	221	191
2	170 g	159	175	138	282	247	204
3	170 g	146	151	141	235	187	195
4	165 g	153	175	132	256	238	229
5	185 g	165	139	133	297	249	180
6	200 g	146	165	137	263	287	207
7	165 g	146	139	135	290	211	207
8	170 g	163	152	144	255	255	202
9	180 g	144	150	144	282	225	184
10	185 g	117	147	121	225	235	194

T a b e l l e 8 - Versuchsreihe 2 a

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel vor	Farbstoff- Quaddel 45 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 45 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 60 min.
------	---------	------------------------------	----------------------------------	---	---	---

nach 20 mg/100 g Tier Ap 769

1	210 g	182	148	149	295	219	214
2	180 g	161	124	114	251	205	189
3	190 g	169	150	164	202	189	189
4	190 g	180	168	139	259	278	212
5	175 g	166	173	173	255	257	221
6	175 g	146	150	162	200	187	216
7	180 g	131	142	129	209	178	170
8	175 g	159	146	131	235	189	173
9	170 g	147	161	129	200	237	205
10	170 g	152	144	137	282	205	217

T a b e l l e 9 - Versuchsreihe 2 b

Tier	Gewicht	Farbstoff- Quaddel vor	Farbstoff- Quaddel 90 min.	Farbstoff- Quaddel 120 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel vor	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 90 min.	Farbstoff- Hyaluro- nidase- Quaddel 120 min.
------	---------	------------------------------	----------------------------------	-----------------------------------	---	---	--

nach 20 mg/100 g Tier Ap 769

1	170 g	155	146	141	259	249	199
2	180 g	159	132	152	263	225	242
3	170 g	185	145	129	291	213	223
4	180 g	153	136	152	283	246	210
5	170 g	173	134	127	229	235	216
6	200 g	149	119	136	232	195	169
7	185 g	173	142	115	241	231	203
8	175 g	178	172	132	293	237	221
9	170 g	128	143	150	252	229	246
10	190 g	173	171	169	244	241	241

T a b e l l e 10 - Versuchsreihe 2 c

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Primäre Aufgabe der statistischen Auswertung von Versuchsergebnissen ist es, die Gesamt-Variabilität der beobachteten Werte in zwei Hauptkomponenten zu zerlegen und zwar in eine Komponente, die durch systematische Faktoren bedingt ist und eine andere, welche die experimentelle Variabilität darstellt. Diejenige Komponente der Gesamt-Variabilität, die durch systematische Faktoren bedingt ist, muss selber noch in so viele Komponenten zerlegt werden, als systematische Faktoren bei dem betreffenden Versuch zu berücksichtigen sind.

Wir führten die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse für die reine Farbstoff-Quaddel und die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel getrennt durch, da sich diese beiden Quaddeltypen in der Regel grundsätzlich verschieden verhalten. Das statistische Modell, das der Auswertung zugrunde gelegt wurde, ist jedoch in beiden Fällen das gleiche.

Bei denjenigen Teil-Versuchsreihen, die mit zwei Tiergruppen durchgeführt wurden, wurde zunächst das Verhalten jeder Tiergruppe einzeln geprüft. Auch hier ist das statistische Modell für jede Tiergruppe und jeden Quaddeltypus das gleiche. Dieses Modell soll zunächst hier diskutiert werden.

Prinzipiell muss mit 2 systematischen Faktoren gerechnet werden, nämlich einmal mit dem Einfluss des jeweiligen Versuchstieres und zum anderen mit dem Einfluss der jeweiligen Versuchszeit, zu der die Hyaluronidase-Aktivität bestimmt wurde.

Die Erfahrung bei der Auswertung früherer Versuche, insbesondere bei der Auswertung methodischer Versuche hat gezeigt, dass man diesen systematischen Einflüssen am besten gerecht wird, wenn man der statistischen Auswertung ein *linear es. Modell* zugrunde legt. Bezeichnet man einen Messwert, der an dem Versuchstier V zu dem Zeitpunkt t des Versuches bestimmt wurde mit

$$x(V;t),$$

so wird bei diesem Modell angenommen, dass sich dieser Messwert in der nachstehenden Form darstellen lässt:

$$x(V;t) = a_V + b_t + \varepsilon.$$

Die beiden Grössen a_V bzw. b_t dieses Ausdruckes sind hierbei konstante Parameter, die nur von dem jeweiligen Versuchstier bzw. nur von der jeweiligen Versuchszeit abhängen und ausserdem voneinander unabhängig sind. Diese beiden Parameter bringen den systematischen Einfluss des jeweiligen Versuchstieres bzw. der jeweiligen Versuchszeit auf den Messwert zum Ausdruck. Die Grösse dagegen ist der Ausdruck desjenigen Anteils der Variabilität der Messwerte, der durch zufällige Einflüsse bedingt ist und den wir weiterhin mit "experimentelle Variabilität" bezeichnen. Das angegebene Modell ist nur dann vollständig, wenn man über das Verhalten der Grösse ε noch gewisse Voraussetzungen macht. Diese lauten dahingehend, dass ε eine normal verteilte Zufallsvariable ist, mit dem Erwartungswert 0 und einer Varianz σ^2 , die nur von der Versuchsanordnung, jedoch nicht von dem jeweiligen Versuchstier bzw. von der jeweiligen Versuchszeit abhängt.

Aufgabe der statistischen Auswertung ist es, nach Festlegung des statistischen Modelles optimale Schätzungen für die Parameter, die in das Modell eingehen, und für die experimentelle Variabilität zu ermitteln. Dies

geschieht im vorliegenden Falle nach der "Methode der kleinsten Quadrate", wobei die experimentelle Variabilität mit Hilfe einer zweifachen Varianz-Analyse geschätzt wird. In den Varianz-Analysen ergibt sich diese Schätzung als "Rest-Varianz".

Hinsichtlich der Schätzung der Parameter sei hier nur erwähnt, in welcher Weise die Parameter b_t , die zu den verschiedenen Zeitpunkten t des Versuches gehören, geschätzt werden. Es bedeutet hierzu $\bar{x}(t)$ das arithmetische Mittel aus allen Messwerten, die zu dem Zeitpunkt t an sämtlichen Versuchstieren einer Versuchsreihe, bzw. einer Tiergruppe beobachtet wurden. Bei passender Normierung der individuellen Konstanten a_v der einzelnen Versuchstiere, ist dann $\bar{x}(t)$ eine optimale Schätzung im Sinne der "Methode der kleinsten Quadrate" für die zum Zeitpunkt t gehörige Konstante b . Innerhalb einer Versuchsreihe liegt eine Veränderung der Hyaluronidase-Aktivität bzw. der Diffusionsgeschwindigkeit einer Quaddel nur dann vor, wenn die zu verschiedenen Zeiten gehörigen Parameter b_t sich voneinander unterscheiden. Zur statistischen Prüfung der Frage, ob in einer Versuchsreihe eine solche Veränderung der Diffusionsgeschwindigkeit vorliegt, war daher zu prüfen, ob die beobachteten Messwerte mit der Hypothese verträglich sind, dass die zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches gehörigen Parameter b_t untereinander gleich sind. Trifft dies nicht zu, so kann als statistisch gesichert gelten, dass während der Versuchsreihe eine Änderung in der Diffusionsgeschwindigkeit aufgetreten ist.

Bei der Versuchsanordnung, die den hier ausgewerteten Versuchen zugrunde liegt, wird die soeben genannte Hypothese am zweckmässigsten mit Hilfe einer zweifachen Varianz-Analyse geprüft, wobei die "Varianz zwischen Versuchsstufen", die sich hierbei ergibt, ein Mass für die Abweichung des experimentell beobachteten Sachverhaltes von der zu

prüfenden Hypothese darstellt. Ist diese Varianz-Komponente statistisch gesichert grösser als die Schätzung der experimentellen Variabilität, die sogenannte Rest-Varianz, so ist die Prüfhypothese zu verwerfen, d.h. es liegt eine statistisch gesicherte Veränderung der Diffusionsgeschwindigkeit des jeweiligen Quaddeltypus vor.

Der anderen Varianz-Komponente, die in der Varianz-Analyse auftritt, der "Varianz zwischen den Tieren", kommt unmittelbar für die vorliegende Fragestellung keine Bedeutung zu. Sie drückt lediglich aus, in welcher Weise sich das "individuelle Reaktionsniveau" der einzelnen Versuchstiere voneinander unterscheidet. Ist sie statistisch wesentlich grösser als die experimentelle Variabilität, so bedeutet dies, dass zu verschiedenen Versuchstieren verschiedene Parameter a_v gehören. Aufgrund des linearen Modelles, kann der zu einem Versuchstier V gehörige Parameter a_v als das "individuelle Reaktionsniveau" dieses Tieres gedeutet werden.

Liefert die Varianz-Analyse einen statistisch gesicherten Hinweis dafür, dass während einer Versuchsreihe eine Änderung in der Diffusionsgeschwindigkeit eingetreten ist, so folgt hieraus, dass mindestens zu einem Zeitpunkt nach Applikation der Prüfsubstanz die Diffusionsgeschwindigkeit sich gegenüber dem Ausgangswert statistisch gesichert verändert hat. Es ist dann zunächst weiter zu prüfen, in welcher Richtung diese Veränderung verlaufen ist, ob eine Vergrösserung oder eine Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit eingetreten ist. Die Richtung der Veränderung kann dadurch ermittelt werden, dass man die Differenz zwischen dem zum Zeitpunkt t gehörigen Parameter b_t und dem Parameter b_0 berechnet, der zum Ausgangswert gehört. Selbstverständlich lassen sich aus den Versuchen nur Schätzwerte für diese Differenz ermitteln. Diese Schätzwerte stellen sich in der Form der Mittelwertsdifferenz

$$\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(0)$$

dar, wobei $\bar{x}(0)$ derjenige Mittelwert ist, der zu dem unbeeinflussten Ausgangswert gehört. Eine Hemmung der Diffusionsgeschwindigkeit zum Zeitpunkt t des Versuches gegenüber dem Ausgangswert liegt nur dann vor, wenn die zugehörige Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ einen negativen Wert besitzt.

Bei allen denjenigen Versuchsreihen, bei denen die Varianz-Analyse eine gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit des jeweiligen Quaddeltypus ergab, musste noch geprüft werden, ob sich diese Veränderung gleichmässig auf die beiden Quaddeln nach Applikation der Prüfsubstanz auswirkt und ob diese beiden Quaddeln sich selber untereinander unterscheiden. Dies geschieht mit Hilfe eines "orthogonalen Vergleiches", wobei 2 weitere Varianz-Komponenten ermittelt werden, die insgesamt die "Varianz zwischen Versuchsstufen" ergeben. Es handelt sich hierbei um die Varianz-Komponente "zwischen Kontrolle und Versuchsstufen" und die Varianz-Komponente "zwischen Versuchszeiten". Mit Hilfe der ersten dieser beiden Varianz-Komponenten wird geprüft, ob die Diffusionsgeschwindigkeit der beiden Quaddeln nach Applikation der Prüfsubstanz im Mittel sich von der Diffusionsgeschwindigkeit der Kontrollquaddel vor Applikation der Substanz unterscheiden. Diese Varianz-Komponente wird wiederum mit der experimentellen Variabilität, d.h. mit der Rest-Varianz, verglichen; ist die Varianz-Komponente "zwischen Kontrollen und Versuchsstufen" gesichert grösser als die Rest-Varianz, so bedeutet dies, dass im Mittel zu den beiden Zeitpunkten nach Applikation der Prüf-Substanz eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit vorliegt. Ist ausserdem die Varianz-Komponente

"zwischen Versuchszeiten" gesichert grösser als die experimentelle Variabilität, d.h. die Rest-Varianz, so bedeutet dies, dass die Diffusionsgeschwindigkeit nach Applikation der Prüfsubstanz ausserdem noch von dem Zeitpunkt ihrer Bestimmung abhängt.

Bei denjenigen Versuchsreihen, die mit 2 verschiedenen Tiergruppen durchgeführt wurden, musste noch geprüft werden, ob zwischen dem Verhalten dieser beiden Tiergruppen statistisch gesicherte Unterschiede bestehen. Da es für die Beurteilung der Versuchsergebnisse nur auf die Grösse der Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}(t)$ ankommt, war zu untersuchen, ob sich die beiden Tiergruppen hinsichtlich dieser Grössen unterscheiden. Es wird hierzu die Hypothese geprüft, dass zu sämtlichen Versuchszeiten t die Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}(t)$ in den beiden Tiergruppen gleich sind; evt. beobachtete Abweichungen somit als zufällig zu interpretieren sind.

Zur Prüfung dieser Hypothese diente wiederum eine Varianz-Analyse, deren statistisches Modell dem oben dargelegten analog ist. Bei diesem Modell ergeben sich etwaige Abweichungen im Verhalten der beiden Tiergruppen als "Wechselwirkung-Zeiten x Tiergruppen"; die Grösse dieser Abweichungen wird durch einen Vergleich der Wechselwirkung mit der experimentellen Variabilität innerhalb der beiden Tiergruppen durchgeführt.

Ergibt sich bei diesem Vergleich der beiden Tiergruppen, dass zwischen ihrem Verhalten kein statistisch wesentlicher Unterschied besteht, so ist es zweckmässig, die Ergebnisse, die bei der Einzel-Untersuchung der beiden Tiergruppen gewonnen werden, zu einem Gesamtergebnis zusammenzufassen. Dies geschieht in der Weise, dass die Varianz-Komponenten der beiden Varianz-Analysen, die zu der Einzeluntersuchung der beiden Tiergruppen gehören, zu einer neuen Varianz-Komponente zusammengefasst werden, durch

welche das Gesamtverhalten der beiden Tiergruppen charakterisiert wird. Liegt kein Unterschied zwischen den beiden Tiergruppen vor, so wird das Ergebnis des jeweiligen Versuches an Hand der zusammengefassten Varianz-Komponenten statistisch beurteilt.

Aus Gründen der experimentellen Technik konnten bei den vorliegenden Versuchen keine Doppelbestimmungen am gleichen Versuchstier zur gleichen Versuchszeit durchgeführt werden; daher konnte die Richtigkeit des zugrunde gelegten statistischen Modelles auch nicht unmittelbar mit Hilfe der vorliegenden Versuche geprüft werden. Dabei ist unter "Richtigkeit" eine angemessene Übereinstimmung zwischen den Werten, die aufgrund des statistischen Modelles erwartet werden müssten und denjenigen Werten, die tatsächlich beobachtet worden sind, zu verstehen. Immerhin gibt es eine Möglichkeit zumindest abzuschätzen, ob das gewählte Modell vernünftig ist. Hierzu wird folgendermassen vorgegangen:

Die zu dem Zeitpunkt t einer Versuchsreihe an sämtlichen Versuchstieren gemessenen Werte weisen eine bestimmte Variabilität auf, als deren Mass wir die empirische Varianz $s^2(t)$ dieser Messwerte ansehen. Wenn das gewählte statistische Modell den realen Sachverhalt in angemessener Weise wiedergibt, muss erwartet werden, dass die zu verschiedenen Zeiten gehörigen empirischen Varianzen $s^2(t)$ alles Schätzwerte der gleichen übergeordneten Varianz sind, d.h. dass sie untereinander homogen sein müssen. Ob diese Annahme zutrifft, kann mit Hilfe des BARTLETT-Tests geprüft werden. Bei allen Versuchsreihen wurde daher auch der BARTLETT-Test durchgeführt. Es muss jedoch bemerkt werden, dass es sich bei den hier dargelegten Überlegungen mehr um eine Plausibilitäts-Betrachtung handelt, als um einen exakten statistischen Test zur Prüfung der Richtigkeit des Modelles.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen

Auswertung

Das Ergebnis der durchgeführten Varianz-Analysen haben wir in den Tabellen 11 - 16 dargestellt. Es bedeutet in den Schemata der Varianz-Analysen:

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente;
SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente;
 $F_{\text{emp.}}$: der Varianz-Quotient zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der experimentellen Variabilität (Rest-Varianz)
p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Zu den Schemata der Varianz-Analysen, die zu Versuchsreihen gehören, bei denen 2 verschiedene Tiergruppen beobachtet wurden, ist noch folgendes zu bemerken: Es ist hier das Ergebnis der Varianz-Analysen für jede einzelne Tiergruppe und ausserdem das Ergebnis der Zusammenfassung dieser beiden Varianz-Analysen in einem einzigen Schema dargestellt. Aus der Bezeichnung der Varianz-Komponenten (1. Gruppe bzw. 2. Gruppe) ergibt sich jeweils, auf welche Gruppe sich die Varianz-Komponente bezieht. Diejenigen Varianz-Komponenten, welche zusätzlich durch "innerhalb Gruppen" gekennzeichnet sind, stellen die jeweilige Zusammenfassung der Einzel-Komponenten dar, so wie sie oben bei der Besprechung der statistischen Methodik erörtert wurde.

Am Fusse jeder Varianz-Analyse ist das Ergebnis des BARTLETT-Tests angegeben, den wir zur Prüfung der Übereinstimmung zwischen dem gewählten Modell und dem realen Sachverhalt durchführten. Es bedeutet hierin "n" die Zahl der Freiheitsgrade der CHI-Quadrat-Verteilung, welcher die Prüfgrösse $\chi^2_{\text{emp.}}$ genügt, wenn die Hypothese zutrifft,

dass die verglichenen Varianzen $s^2(t)$ untereinander homogen seien.

Die Mittelwerte $\bar{x}(t)$ der zu jedem Zeitpunkt t an den Versuchstieren beobachteten Werte, die empirischen Varianzen $s^2(t)$ dieser Werte und die Mittelwertsdifferenzen $\delta\bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(0)$ finden sich in den Tabellen

17 - 22. Bei denjenigen Versuchsreihen, die mit 2 verschiedenen Tiergruppen durchgeführt wurden, sind in diesen Tabellen jeweils nur die Werte der zusammengefassten zwei Tiergruppen angegeben. Dies ist gerechtfertigt, da sich zwischen den beiden Tiergruppen in keinem Falle statistisch gesicherte Unterschiede ergeben haben, (siehe unten). Soweit sich aus den Varianz-Analysen ergeben hat, dass zwischen den Diffusionsgeschwindigkeiten zu verschiedenen Zeitpunkten einer Versuchsreihe statistisch gesicherte Unterschiede vorliegen, haben wir in diesen Tabellen auch das Ergebnis des orthogonalen Vergleiches angegeben. Hierzu wurde in der mit "Sicherung" überschriebenen Spalte angeführt, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit behauptet werden kann, die betreffende Mittelwertsdifferenz $\delta\bar{x}(t)$ sei gesichert von 0 verschieden. Nur wenn diese Irrtumswahrscheinlichkeit nicht grösser als 5 % ist, kann behauptet werden, dass zu dem betreffenden Zeitpunkt eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit des betreffenden Quaddel-Typus gegenüber dem Ausgangswert vor Applikation der Prüfsubstanz vorliegt. Eine ausreichende statistische Sicherung für diese Behauptung liegt allerdings erst dann vor, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit nicht grösser ist als 1 %.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Zunächst soll für diejenigen Versuchsreihen, bei denen 2 verschiedene Tiergruppen beobachtet wurden, das Ergebnis des Vergleichs zwischen dem Verhalten dieser beiden

Tiergruppen diskutiert werden. Bei keiner dieser Versuchsreihen ergab sich eine "Wechselwirkung Tiere x Gruppen", die statistisch gesichert grösser ist als die experimentelle Variabilität. Dies bedeutet, dass sich statistisch keinerlei Unterschiede zwischen dem Verhalten der beiden Gruppen hinsichtlich der Veränderungen in den Diffusionsgeschwindigkeiten der Quaddeln feststellen lassen. Es war somit gerechtfertigt, bei der weiteren Auswertung zwischen den beiden Tiergruppen nicht mehr zu unterscheiden.

Der BARTLETT-Test ergibt in keinem Falle eine Prüfgrösse $\chi^2_{\text{emp.}}$, deren Überschreitungswahrscheinlichkeit in der zugehörigen Prüfverteilung kleiner als 5 % ist. Dies kann dahingehend interpretiert werden, dass die Übereinstimmung zwischen dem real beobachteten Sachverhalt und dem statistischen Modell der theoretischen Erwartung entspricht.

Bei der Versuchsreihe 1 (Tyloseschleim) ergab sich in keiner der Teilversuchsreihen ein Hinweis dafür, dass eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff-Quaddel bzw. der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vorliegt. Eine hyaluronidasehemmende Wirkung des Tyloseschleimes kann somit aufgrund dieser Versuche ausgeschlossen werden. Eine etwaige Hyaluronidasehemmung durch die in Tyloseschleim gelöste Substanz Ap 769 kann somit nicht als ausschliessliche Wirkung des Tyloseschleims interpretiert werden. Nicht ausgeschlossen werden kann jedoch, zumindest theoretisch, dass eine solche Hyaluronidasehemmung erst durch die Kombination der beiden Substanzen zustande kommt, nicht jedoch ausschliesslich durch die Substanz Ap 769.

Bei der Versuchsreihe 2 (Ap 769) ergaben sich bei der reinen Farbstoff-Quaddel innerhalb sämtlicher Teilversuchsreihen statistisch gesicherte Veränderungen in der Diffusionsgeschwindigkeit. Das Vorzeichen der Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ zeigt, dass es sich hierbei um eine Verringerung der Diffusionsgeschwindigkeit zu den Versuchszeiten gegenüber dem Ausgangswert handelt. Diese Verminderung in der Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel tritt am stärksten zu den Zeitpunkten 90' und 120' in Erscheinung.

Bei der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel der Versuchsreihe 2 liegt ebenfalls bei allen Teilversuchsreihen eine statistisch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit vor; diese Sicherung ist allerdings bei der Teilversuchsreihe 2b nur schwach. Auch hier ergibt das Vorzeichen der Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$, dass es sich bei der Veränderung der Diffusionsgeschwindigkeit um eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität handelt, die ihr Maximum zum Zeitpunkt 30' p.i. erreicht. Zu den späteren Zeitpunkten ist die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität kleiner; sie nimmt jedoch nicht stetig mit der Zeit ab, sondern weist Schwankungen auf. Diese sind denjenigen der reinen Farbstoff-Quaddel annähernd analog.

TYLOSESCHLEIM

15' und 30'
Farbstoff-Quaddel

Vergleich zwischen Tiergruppen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Stufen	2	33	16		
Zwischen Gruppen	1	720	360		
Stufen Gruppen	2	6	3	-	
Gesamt-Varianz	5	759	152		

Gesamtauswertung

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren (Innerh. Gruppen)	8	1.108	138	2.19	-
1. Gruppe	4	568	142	1.48	
2. Gruppe	4	540	135	4.35	
Zwischen Stufen (Innerh. Gruppen)	4	39	10	-	-
1. Gruppe	2	13	7	-	
2. Gruppe	2	26	13	-	
Zwischen Gruppen	1	720	720	11.43	1%
Rest-Varianz (Innerh. Gruppen)	16	1.012	63		
1. Gruppe	8	766	96		
2. Gruppe	8	246	31		
Gesamt - Varianz	29	2.879	99		

$n = 2; \chi^2_{emp.} = 6.133; 2\% < p.$

TYLOSESCHLEIM

15' und 30'

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Vergleich zwischen Tiergruppen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Stufen	2	727	363		
Zwischen Gruppen	1	617	617		
Stufen Gruppen	2	240	120	-	
Gesamt - Varianz	5	1.584	317		

Gesamtauswertung

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren (Innerh. Gruppen)	8	4.731	591	3.60	5%
1. Gruppe	4	4.118	1.029	5.15	
2. Gruppe	4	613	153	1.20	
Zwischen Stufen (Innerh. Gruppen)	4	968	242	1.48	-
1. Gruppe	2	262	131	-	
2. Gruppe	2	706	353	2.78	
Zwischen Gruppen	1	617	617	3.76	
Rest - Varianz (Innerh. Gruppen)	16	2.622	164		
1. Gruppe	8	1.603	200		
2. Gruppe	8	1.019	127		
Gesamt - Varianz	29	8.938	308		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 6.448; 2\% < p.$$

TYLOSESCHLEIM

45' und 60'
Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	1.810	201	3.24	5%
Zwischen Stufen	2	69	34	-	
Rest - Varianz	18	1.122	62		
Gesamt - Varianz	29	3.001	103		

$n = 2$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 2.714$; 20 % < p.

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	9	6.516	724	7.02	0.1%
Zwischen Stufen	2	84	42	-	
Rest - Varianz	18	1.863	103		
Gesamt - Varianz	29	8.463	292		

$n = 2$; $\chi^2_{\text{emp.}} = 0.596$; 70 % < p.

TYLOSESCHLEIM

90' und 120'

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	9	2.192	244	4.21	1%
Zwischen Stufen	2	468	234	4.03	5%
Zw.Kontrolle u. V.zeiten	1	454	454		
Zwischen Versuchs- zeiten	1	14	14		
Rest-Varianz	18	1.042	58		
Gesamt - Varianz	29	3.702	128		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 4.386; 10 \% < p.$$

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren	9	4.924	547	3.64	1%
Zwischen Stufen	2	5	3	-	
Rest - Varianz	18	2.697	150		
Gesamt - Varianz	29	7.626	263		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0.869; 50 \% < p.$$

Ap 769

15' und 30'

Farbstoff-Quaddel

Vergleich zwischen Tiergruppen

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Stufen	2	1.412	706		
Zwischen Gruppen	1	456	456		
Stufen - Gruppen	2	112	56	-	
Gesamt - Varianz	5	1.980	396		

Gesamtauswertung

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp}	p.
Zwischen Tieren (Innerh. Gruppen)	8	1.431	179	1.47	-
1. Gruppe	4	313	78	-	
2. Gruppe	4	1.118	279	3.24	
Zwischen Stufen (Innerh. Gruppen)	4	1.525	381	3.12	5%
1. Gruppe	2	1.006	503	3.16	
2. Gruppe	2	519	260	3.02	
Zw. Kontrolle u. V. Zeiten	2	178	89	-	
Zw. Versuchs-Zeiten	2	1.347	673	5.52	5%
Zwischen Gruppen	1	456	456	3.74	-
Rest - Varianz	16	1.957	122		
1. Gruppe	8	1.269	159		
2. Gruppe	8	688	86		
Gesamt - Varianz	29	5.369	185		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1.976; 30 \% < p.$$

T a b e l l e 1 4 a

Ap 769
15' und 30'

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Vergleich zwischen Tiergruppen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Stufen	2	22.559	11.279		
Zwischen Gruppen	1	34	34		
Stufen - Gruppen	2	588	294	-	
Gesamt - Varianz	5	23.181	4.636		

Gesamtauswertung

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren (Innerh. Gruppen)	8	4.933	617	1*25	-
1. Gruppe	4	3.081	770	1*87	
2. Gruppe	4	1.852	463	-	
Zwischen Stufen (Innerh. Gruppen)	4	23.147	5.787	11*71	0*1%
1. Gruppe	2	12.387	6.194	15*07	
2. Gruppe	2	10.760	5.380	9*31	
Zw. Kontrolle u. V. Zeiten	2	16.306	8.153	16*50	0*1%
Zw. Versuchs-Zeiten	2	6.841	3.421	6*93	1%
Zwischen Gruppen	1	34	34	-	-
Rest-Varianz (Innerh. Gruppen)	16	7.911	494		
1. Gruppe	8	3.287	411		
2. Gruppe	8	4.624	578		
Gesamt - Varianz	29	36.025	1.242		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 3.841; 10 \% < p.$$

Ap 769

45' und 60'

Farbstoff - Quaddel

Vergleich zwischen Tiergruppen

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Stufen	2	2.362	1.181		
Zwischen Gruppen	1	691	691		
Stufen Gruppen	2	862	431	2.69	-
Gesamt - Varianz	5	3.915	783		

Gesamtauswertung

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren					
(Innerh. Gruppen)	8	2.312	289	1.81	-
1. Gruppe	4	1.775	444	2.16	
2. Gruppe	4	537	134	1.18	
Zwischen Stufen					
(Innerh. Gruppen)	4	3.224	806	5.04	1%
1. Gruppe	2	2.871	1.435	6.97	
2. Gruppe	2	353	176	1.56	
Zw. Kontrolle u.					
V. Zeiten	2	2.374	1.187	7.42	1%
Zw. Versuchszeiten	2	850	425	2.66	-
Zwischen Gruppen	1	691	691	4.32	-
Rest - Varianz					
(Innerh. Gruppen)	16	2.556	160		
1. Gruppe	8	1.652	206		
2. Gruppe	8	904	113		
Gesamt - Varianz	29	8.783	303		

$n = 2; \chi^2_{emp.} = 0.266; 80 \% < p.$

T a b e l l e 15 a

Ap 769
45' und 60'

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Vergleich zwischen Tiergruppen

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Stufen	2	7.403	3.701		
Zwischen Gruppen	1	3.967	3.967		
Stufen - Gruppen	2	798	399	-	
Gesamt - Varianz	5	12.168	2.434		

Gesamtauswertung

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren (Innerh. Gruppen)	8	10.177	1.272	2.31	-
1. Gruppe	4	6.069	1.517	3.21	
2. Gruppe	4	4.108	1.027	1.63	
Zwischen Stufen (Innerh. Gruppen)	4	8.201	2.050	3.72	5%
1. Gruppe	2	5.658	2.829	5.99	
2. Gruppe	2	2.543	1.272	2.02	
Zw. Kontrolle und V. Zeiten	2	6.329	3.165	5.74	5%
Zwischen Versuchs- Zeiten	2	1.872	936	1.70	-
Zwischen Gruppen	1	3.967	3.967	7.20	5%
Rest-Varianz (Innerh. Gruppen)	16	8.814	551		
1. Gruppe	8	3.775	472		
2. Gruppe	8	5.039	630		
Gesamt - Varianz	29	31.159	1.075		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 3.491; 10 \% < p.$$

Ap 769

90' und 120'

Farbstoff-Quaddel

Vergleich zwischen Tiergruppen

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Stufen	2	2.856	1.428		
Zwischen Gruppen	1	411	411		
Stufen - Gruppen	2	253	126	-	
Gesamt - Varianz	5	3.520	704		

Gesamtauswertung

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren (Innerh. Gruppen)	8	2.518	315	1.23	-
1. Gruppe	4	1.372	343	1.76	
2. Gruppe	4	1.146	286	-	
Zwischen Stufen (Innerh. Gruppen)	4	3.110	777	3.02	5%
1. Gruppe	2	1.916	958	4.91	
2. Gruppe	2	1.194	597	1.71	
Zw. Kontrolle und V. Zeiten	2	2.867	1.434	5.58	5%
Zw. Versuchs-Zeiten	2	243	122	-	
Zwischen Gruppen	1	411	411	1.60	-
Rest - Varianz (Innerh. Gruppen)	16	4.106	257		
1. Gruppe	8	1.559	195		
2. Gruppe	8	2.547	318		
Gesamt - Varianz	29	10.145	350		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 0.058; 95 \% < p.$$

Ap 769

90' und 120'

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Vergleich zwischen Tiergruppen

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Stufen	2	9.095	4.547		
Zwischen Gruppen	1	711	711		
Stufen - Gruppen	2	317	158	-	
Gesamt - Varianz	5	10.123	2.025		

Gesamtauswertung

Varianz - Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p.
Zwischen Tieren (Innerh. Gruppen)	8	5.526	691	1.92	-
1. Gruppe	4	715	179	-	
2. Gruppe	4	4.811	1.203	4.30	
Zwischen Stufen (Innerh. Gruppen)	4	9.413	2.353	6.54	1%
1. Gruppe	2	3.665	1.833	4.16	
2. Gruppe	2	5.748	2.874	10.26	
Zw. Kontrolle und V. Zeiten	2	8.273	4.137	11.49	0.1%
Zw. Versuchs-Zeiten	2	1.139	569	1.58	-
Zwischen Gruppen	1	711	711	1.97	-
Rest-Varianz (Innerh. Gruppen)	16	5.765	360		
1. Gruppe	8	3.522	440		
2. Gruppe	8	2.243	280		
Gesamt - Varianz	29	21.415	739		

$$n = 2; \chi^2_{\text{emp.}} = 1.534; 30 \% < p.$$

TYLOSESCHLEIM

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Sicherung
F_v	159	207		
FH_v	253	574		
$F_{15'}$	159	69	0	-
$FH_{15'}$	251	158	- 2	-
$F_{30'}$	157	41	- 2	-
$FH_{30'}$	242	126	-11	-

T a b e l l e 17

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Sicherung
F_v	149	177		
FH_v	261	343		
$F_{45'}$	153	82	+ 4	-
$FH_{45'}$	263	360	+ 2	-
$F_{60'}$	151	66	+ 2	-
$FH_{60'}$	265	228	+ 4	-

T a b e l l e 18

TYLOSESCHLEIM

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Sicherung
F_v	143	376		
FH_v	255	390		
$F_{90'}$	152	162	+ 9	-
$FH_{90'}$	255	228	0	-
$F_{120'}$	150	156	+ 7	-
$FH_{120'}$	254	229	- 1	-

T a b e l l e 19

Ap 769

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Sicherung
F_v	150	189		
FH_v	266	565		
$F_{15'}$	154	173	+ 4	-
$FH_{15'}$	236	736	-30	1 %
$F_{30'}$	138	78	-12	5 %
$FH_{30'}$	199	195	-67	0.1 %

T a b e l l e 20

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Sicherung
F_v	159	252		
FH_v	239	1.235		
$F_{45'}$	151	196	- 8	-
$FH_{45'}$	216	1.047	-23	5 %
$F_{60'}$	138	265	-21	1 %
$FH_{60'}$	201	358	-38	5 %

T a b e l l e 21

Ap 769

	$\bar{x}(t)$	$s^2(t)$	$\bar{x}(t) - \bar{x}(v)$	Sicherung
F_v	163	290		
FH_v	259	555		
$F_{90'}$	144	273	- 19	5 %
$FH_{90'}$	230	261	- 29	0.1 %
$F_{120'}$	140	247	- 23	5 %
$FH_{120'}$	217	552	- 42	0.1 %

T a b e l l e 22

Diskussion

Die Untersuchungen haben ergeben, dass die Prüfsubstanz (Ap 769) einen im Vergleich zu anderen untersuchten Stoffen stark hemmenden Einfluss auf das Hyaluronidase-spreading ausübt, der seinen Maximalwert mit 30 min. nach intraperitonealer Applikation mit einer Mittelwertsdifferenz von 67 mm^2 erkennen lässt. Die Ergebnisse sind in der Abbildung 1 nochmals übersichtlich graphisch dargestellt.

Auch die Ausbreitung der Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidasebeimengung erfährt eine gewisse Verringerung, als deren Ursache die hemmende Beeinflussung der natürlichen Gewebshyaluronidase durch die Prüfsubstanz oder ein hyaluronidaseunspezifischer permeabilitätshemmender Effekt zu diskutieren ist.

Da die Prüfsubstanz in Tyloseschleim suspendiert wurde, war es erforderlich, Vergleichsuntersuchungen mit intraperitonealer Applikation der gleichen Menge Tyloseschleims ohne Zusatz von hemmender Substanz durchzuführen. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe bestätigen die spezifische Hemmwirkung der Prüfsubstanz, da das Suspensionsmittel keinen statistisch zu sichernden hemmenden Effekt auf das Hyaluronidasespreading erkennen lässt.

Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Prüfsubstanz 2-(-Methoxyäthoxy)-5-acetamino-butyrophenon (Versuchsbezeichnung Ap 769) bei intraperitonealer Applikation eine Verringerung der Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Farbstoffquaddel bewirkt, deren Maximum bei den Zeitpunkten 90 und 120 min. p.i. liegt.

Bei der Farbstoff- Hyaluronidase-Quaddel liegt ebenfalls eine statistisch gesicherte Verminderung der Diffusionsgeschwindigkeit vor, die ihr Maximum zum Zeitpunkt 30 min. p.i. erreicht.

Die mit reinem Tyloeschleim durchgeführten Versuche haben gezeigt, dass kein Einfluss auf die Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff- bzw. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vorliegt.

Statistisch zeigt sich keinerlei Unterschied hinsichtlich der Veränderungen in den Diffusionsgeschwindigkeiten der Quaddeln, die lagemässig nicht wie üblich von cranial nach caudal, sondern umgekehrt gesetzt wurden.

Mittelwertsdifferenz

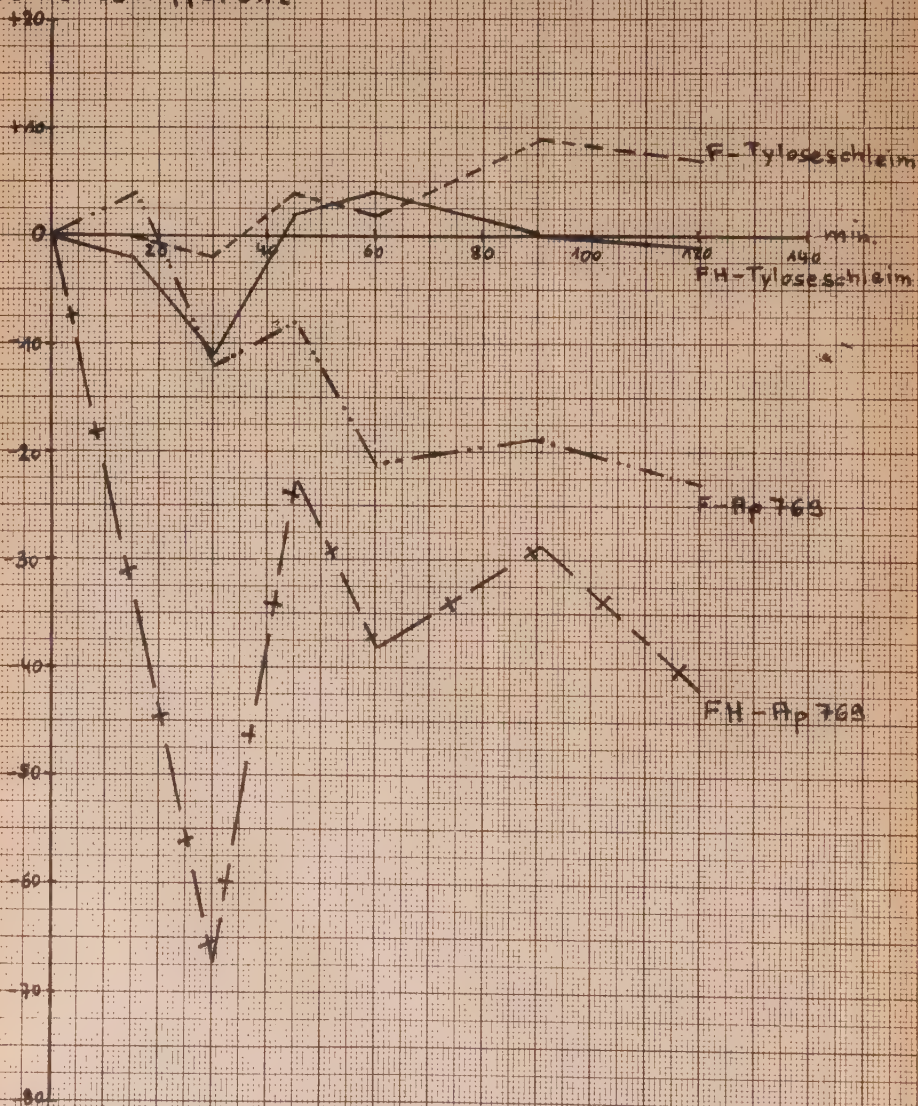


Abbildung 1

14. Mitteilungen des Pharmakolog. Laboratoriums d.
Fa. Karl Thomae, Biberach
15. Madinaveitia, J.: Biochem. J. 32, 1806 (1938)
16. Wilhelmi, G.: Zit.Domenjoz, R.
Arch.exper.Path.u.Pharmakol.
225, 14 (1955)

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. H. Mathies für die Darlegung der Problematik und die Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas. Für die Durchführung der statistischen Berechnungen danke ich Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich.

Der Fa. Dr. Karl Thomae, Biberach, gilt mein Dank für die gewährte Unterstützung und die zur Verfügung gestellte Versuchssubstanz.

Lebenslauf

Am 18. Juli 1933 wurde ich, Thomas Batisweiler, als Sohn des Buchhändlers Martin Batisweiler und seiner Frau Maria, geb. Göbbels, in Budapest geboren. Hier besuchte ich die Volksschule. Die Flucht im November 1944 brachte uns nach München, wo ich auch die Oberschule besuchte. Im Juli 1954 machte ich am Alten Realgymnasium in München mein Abitur.

Im November 1954 wurde ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München immatrikuliert. Vier Semester lang studierte ich Rechts- und Staatswissenschaften. Im November 1956 begann ich mein Medizinstudium. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich im Februar 1959. Das medizinische Staatsexamen beendete ich am 25. Juli 1962.

